

Adatok néhány cellulózbontó mikrogomba nitrogén táplálkozásához

I. Nitrogénforrás minősége és C:N arány

SZEGI JÓZSEF

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

A cellulózbontó mikroszkopikus gombáknak a nitrogénforrásokkal szemben támasztott igénye lényeges mértékben eltér egymástól. ROBBINS [9] a talajban élő mikroszkopikus gombákat nitrogénforrás hasznosító képességük alapján az alábbiak szerint csoportosítja:

a) légköri nitrogént, ammónium nitrogént, nitrát nitrogént és szerves nitrogént értékesítő fajok, b) ammónium nitrogénnel, nitrát nitrogénnel és szerves nitrogénnel táplálkozó gombák, c) ammónium nitrogént és szerves nitrogént hasznosító gombák, d) csak szerves nitrogénnel növekedő gombák.

Természetesen a fenti osztályozás nem mentes hiányosságoktól. Így már ROBBINS is rámutatott arra, hogy egy fajnak egyik vagy másik csoporthoz történő besorolása a tenyésztés viszonyaitól függően is módosulhat.

A mikroszkopikus gombák nitrogénkötő képességével kapcsolatban, több egymásnak ellentmondó adat található az irodalomban, amely többnyire abból származik, hogy a tenyésztetből kimutatott nitrogéntöbblet olyan kevés, hogy az kísérleti hibaforrásokkal is magyarázható. Több szerző (DUGGAR és DAVIS [4], TOVE és munkatársai [11], VERONA és PICCI [12]) közöl adatokat azzal kapcsolatban, hogy egyes gombák értékesítik az atmoszférikus nitrogént. BOND [1] számos mykorrhiza gombáról állapította meg, hogy azok a légkör nitrogénjét képesek megkötni.

A magasabbrendű növényekhez hasonlóan a mikroszkopikus gombák a NO_3 nitrogént csak akkor tudják testükbe beépíteni, amennyiben azt előzőleg ammóniává redukálják. A különböző gombák esetében azonban lényeges eltérések vannak a két nitrogénforrás hasznosítását illetően. A gombák túlnyomó többsége a meghatározott pH viszonyok között az NH_4^+ nitrogénforrást részesíti előnyben, s mindkét N forrást tartalmazó táptalajon a NO_3^- -t csak azután kezdi értékesíteni, miután az összes ammóniumionokat felhasználta.

Amennyiben a tápoldat rendkívül savanyú (alacsonyabb pH 3-nál) — mutatnak rá BÜNNING [3] és ITZEROTT [6] — a tápoldatból elsőnek a NO_3^- -ionok tűnnek el. Hasonló megfigyelései voltak RIPPÉL-nek [8] és FOSTER-nek [5] is.

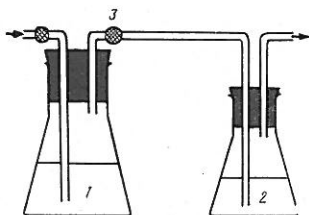
BRIAN és munkatársai [2], a *Myrothecium verrucaria* gombát neutrális-hoz közelálló tápközegen tenyésztve — a fentiekkel ellentétben azt találták, hogy az a nitrát nitrogént előnyben részesíti az NH_4^+ -al szemben. A szerzők szerint a szénforrás minősége is befolyásolja, hogy melyik nitrogénforrás használdódik fel gyorsabban. A NO_3^- elsőbbségét hangsúlyozzák a *Myrothe-*

cium verrucaria esetében SINDEN és munkatársai [10] is, akik szerint az említett gomba akkor növekedik legintenzívebben, amennyiben az ammónium- és nitrátionok egymáshoz viszonyított aránya 1 : 24. Ezzel szemben a *Curvularia lunata* kevésbé érzékeny a két nitrogénforrás értékesítése szempontjából.

A cellulóz-bontó gombák tevékenységét a szubsztrátum C : N aránya is befolyásolhatja. Az optimális C : N arány azonban számos tényező függvénye, amelyek közül *a*) a mikroszervezet faji sajátosságának, *b*) a szénforrás minőségének, *c*) a szénforrás koncentrációjának, *d*) valamint a különböző környezeti faktoroknak (táptalaj összetétele, pH-ja, az inkubáció hőfoka, stb.) van alapvető szerepe. KAUFMAN és WILLIAMS [7] szerint a C : N arány lényeges mértékben hat a különböző gombafajok előfordulására a talajban. A szerzők szerint a szűk C : N arány erősen megnöveli a gombák össz mennyiségét. A gombafajok egyrésze a szűk C : N arányt kedveli, míg mások a tág C : N arány esetében dominálnak. Amennyiben a talajhoz búzaszalmát kevertek, a gombák össz mennyisége megnövekedett, azonban a faji összetétel gazdagsága csökkenő tendenciát mutatott. A szalma bevitele elsősorban a *Chaetomium*, *Humicola*, *Masoniella* és a *Stysanus*-fajokhoz tartozó cellulóz-bontó gombák számát növelte meg.

Kísérleti rész

Munkánk első részében azt tanulmányoztuk, hogy az általunk kitenyészített 21 cellulóz-bontó mikroszkopikus gomba különböző nitrogénforrások jelenlétében mennyi cellulózt képes értékesíteni. A kísérletet az alábbi 4 variációban folytattuk le: *a*) NH_4NO_3 nitrogénforrás, *b*) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ nitrogénforrás, *c*) Na-NO_3 nitrogénforrás, *d*) karbamid nitrogénforrás. Tápközegeként a következő



1. ábra

Készülék az NH_3 termelés tanulmányozására. 1. Tenyészet. 2. 0,2%-os H_3BO_3
3. Vattaszűrő

összetételű folyékony szubsztrátum szolgált: $\text{MgSO}_4 = 1 \text{ g}$; $\text{KCl} = 1 \text{ g}$; deszt. víz 1000 ml. A nitrogénvegyületek 0,44 g/l-re lettek átszámítva, s ennek megfelelően felhasználva az egyes kezelésekénél. Ezután elkészített oldatot 25 ml-enként 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba osztottuk szét, amelyekbe előzőleg 1–1 g abszolút szárazra kiszáritott cellulózport mértünk. A fenti tápoldatot külön sterilizált M/15-ös koncentrációjú, pH 7-re beállított foszfát pufferrel 50 ml-re egészítettük ki. A foszfát puffer szolgált a vizsgált szervezetek foszforszükségletének biztosítására is. Az ily módon elkészített szubsztrátumot beoltottuk a vizsgált gombák 1 hetes spóraszuspenziójával, majd 12 héten át 28 °C-os termosztátban inkubáltuk a tenyészeteket.

1. táblázat

Különböző nitrogénforrások hatása a cellulóz gombák által történő elbontására

(1) Törzsek megnevezése	(2) Kezelések			
	Az elbontott cellulóz mennyisége mg-ban 50 ml tápoldatban			
	NH_4NO_3	NaNO_3	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	karbamid
<i>Aspergillus ustus</i>	781	546	873	571
<i>Aspergillus candidus</i> (L-1)	221	217	266	227
<i>Penicillium pallidum</i>	355	417	384	291
<i>Penicillium</i> sp. <i>P. funiculosum</i> series (511)	786	450	849	243
<i>Penicillium nalgiovensis</i> (Ksz-11)	790	433	831	254
<i>Penicillium piscarium</i> (L-2)	455	413	654	480
<i>Pen. verruculosum</i> (L-5)	861	837	874	772
<i>Penicillium</i> sp. (L-8)	619	550	894	772
<i>Fusarium</i> sp. (602)	783	520	772	696
<i>Fusarium</i> sp. (tb-11)	836	755	823	693
<i>Fusarium aquaeductuum</i> var. <i>dimerum</i> (tn-22)	875	779	831	854
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (L-6)	587	465	853	522
<i>Fusarium solani</i> var. <i>argillaceum</i> (L-12)	706	471	682	659
<i>Hormodendrum</i> sp. (L-10)	427	312	453	280
<i>Hormodendrum</i> sp. (L-11)	886	561	893	748
<i>Humicola</i> sp. (A-22)	610	433	679	422
<i>Humicola</i> sp. (Hsz-304)	296	353	411	244
<i>Nigrospora</i> sp.	274	236	276	112
<i>Stachybotrys atra</i>	487	572	639	384
<i>Verticillium candellabrum</i> (L-13)	393	391	487	261

Az inkubáció befejezése után az alábbi módon határoztuk meg a visszamaradt cellulózt. A gombamicélium és cellulózkeverék szűrletét többszörösen mostuk forró vízzel, majd 0,2%-os forró szódaoldattal. Ezután ismét forróvízes mosás következett, majd 10%-os sósavval mostuk át a maradékot. Ezt követte az ismételt forróvízes mosás, amelyet addig folytattunk, míg a mosóvíz kémhatása közel neutrális lett. Ezután a cellulózmaradékot légszárazra szárítottuk ki, s analitikai mérlegen meghatároztuk a súlyát. Mérés után a cellulózpor és micéliumkeveréket, amelyből előzőleg az ismételt mosásokkal eltávolítottuk az ásványi sókat, Kjeldahl módszerével leroncsoltuk, az ammónia-tartalmat fehérjére számítottuk át, s ezt levontuk a cellulóz maradék súlyából. A kísérlet eredményét az 1. táblázatban mutatjuk be.

Vizsgálataink második részét az képezte, hogy az előző kísérleteink során tanulmányozott mikroszkópikus gombák egymástól eltérő C : N arányok esetében mennyi cellulózt képesek leépíteni, valamint az ásványi nitrogénvegyületeknek növekvő koncentrációi mennyiben váltanak ki nitrogénvesztést, azaz ammónia kiválást a szubsztrátumból.

A vizsgálatokat az előbb ismertetett összetételű tápoldat felhasználásával folytattuk le. A tápoldat kémhatását az előbbiek szerint pH 7-en rögzítettük foszfát puffer segítségével. A tápoldatot 50 ml-enként 250 ml-es Erlenmeyer-lombikokba mértük szét, amelyek előzőleg már 2 g abszolút száraz cellulózt tartalmaztak. A tápoldat foszforkomponensét a foszfát puffer képezte, amellyel sterilizálás után a táptalajt 100 ml-re egészítettük ki. Nitrogén-

2. tábl.

A C : N arány hatása a cellulóz elbontására

(1) Törzsek megnevezése	(2) Különböző C : N arányú kezelések												(4) Az el- bontott cellu- lóz %
	2,5 : 1					5 : 1							
	(3) Az analízisek sorrendje					(4) Az el- bontott cellulóz %	(3) Az analízisek sorrendje						
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		
Aspergillus ustus	2,5	—	—	0,2	0,9	39,2	1,0	—	—	—	1,5	51,4	
Aspergillus candidus (L-1)	4,4	2,6	4,3	1,6	2,6	19,7	1,8	0,4	—	—	—	21,0	
Penicillium pallidum	5,2	2,6	—	—	—	28,1	3,7	1,6	—	—	—	32,7	
Penicillium sp. P. funiculosum series (511)	5,2	1,4	—	—	—	51,7	1,0	—	—	—	—	63,1	
Penicillium nalgiovensis (Ksz-11)	5,0	2,2	—	—	5,2	61,7	4,0	2,1	—	—	6,3	68,9	
Penicillium sp. P. purpuroge- num series (Ksz-14)	3,4	0,7	—	—	—	59,3	2,4	—	—	—	—	60,2	
Penicillium piscarium (L-2)	1,5	0,9	0,2	—	—	41,5	0,5	—	—	—	—	39,7	
Penicillium verruculosum (L-85)	4,9	—	—	—	—	65,3	2,3	—	—	—	—	72,4	
Penicillium sp. (L-8)	5,6	2,1	—	—	—	63,1	5,2	2,0	—	—	—	61,6	
Fusarium sp. (602)	1,5	—	—	—	—	58,7	1,0	—	—	—	—	71,2	
Fusarium sp. (tn-11)	2,5	5,1	0,3	—	—	80,3	—	1,5	5,5	0,8	—	84,2	
Fusarium aquaeductuum var. dimerum (tn-22)	6,7	4,0	3,3	1,0	0,9	60,3	5,1	3,3	1,1	0,5	2,1	67,1	
Fusarium avenaceum var. herbarum (L-6)	3,1	1,8	—	—	—	53,1	1,5	1,1	—	—	—	60,4	
Fusarium solani var. argillaceum (L-12)	1,9	0,9	—	—	—	64,7	0,8	0,6	—	—	—	65,1	
Hormodendrum sp. (L-10)	6,5	4,6	0,9	—	—	40,6	3,6	0,6	—	—	—	42,1	
Hormodendrum sp. (L-11)	1,9	2,9	—	—	—	60,3	1,2	1,9	—	—	—	75,4	
Humicola sp. (A-22)	1,4	2,6	2,1	0,3	—	48,4	0,8	3,0	1,2	—	—	52,1	
Humicola sp. (Hsz-304)	0,8	1,9	0,7	0,3	1,0	21,6	1,0	—	—	—	—	25,5	
Nigrospora sp.	5,2	1,2	0,9	—	—	26,3	2,6	1,7	—	—	—	23,5	
Stachybotrys atra	2,9	2,4	—	—	—	35,4	1,7	0,6	—	—	—	41,5	
Verticillium candellabrum (L-13)	2,7	—	0,5	0,3	0,6	30,7	1,4	1,1	—	—	—	35,1	
Trichoderma sp. (111)	4,2	—	—	—	—	82,4	2,3	—	—	—	—	81,5	
Mycelia sterilia (L-9)	—	—	—	—	2,2	29,1	—	—	—	—	2,5	36,5	

forrásként NH_4NO_3 -ot használtunk fel, amelynek mennyisége a kísérlet egyes kezeléseinél akként változott, hogy a C : N arány 20 : 1, 15 : 1, 10 : 1, 5 : 1, és 2,5 : 1-nek feleljen meg.

Az egy hetes spóraszuszpenzióval történő inokuláció után a tenyészlombikok vattadugóit előzőleg sterilizált, üvegcsöveket tartalmazó gumidugóval cseréltük fel. Az üvegcsövek felső részén egy kitágított részt sterilizálás előtt vattával töltöttük ki, a tenyészetek sterilizálásának biztosítása céljából. Az egyes tenyészlombikokat 25 ml 2%-os bórsavat tartalmazó kisebb lombikokkal kapcsoltuk össze az 1. ábrában látható séma szerint (1. ábra).

Egy respirációs rendszerbe 72 tenyészlombik, valamint ugyanannyi elnyelető lombik tartozott. Az edényeket gumicsövekkel kapcsoltunk respi-

lázat

és NH_3 kiválasztására a táptalajból (mg)

10 : 1				15 : 1			(4) Az el- bontott cellulóz %	20 : 1			(4) Az el- bontott cellulóz %
(3) Az analízisek sorrendje			(4) Az el- bontott cellulóz %	(3) Az analízisek sorrendje				(3) Az analízisek sorrendje			
1	2	5		1	4	5		1	4	5	
0,4	—	—	87,5	—	—	—	83,2	—	—	—	81,2
—	—	—	27,1	—	—	—	24,7	—	—	—	26,0
0,9	0,3	—	29,7	0,6	—	—	32,5	0,4	—	—	31,3
—	—	—	72,0	—	—	—	77,5	—	—	—	75,1
1,6	0,6	5,0	79,1	0,6	0,4	7,7	75,4	—	1,1	6,3	77,3
0,6	—	—	65,8	0,4	—	—	70,1	0,7	—	—	69,6
0,4	—	—	44,1	0,3	—	—	43,9	—	—	—	42,7
—	—	—	81,5	—	—	—	84,2	—	—	—	83,4
2,0	—	—	64,3	—	—	—	63,7	—	—	—	67,5
—	—	—	73,4	—	—	—	74,5	—	—	—	70,8
—	—	—	82,3	—	—	—	83,4	—	—	—	85,1
1,2	1,4	0,9	72,1	—	—	1,9	74,7	—	—	2,7	73,5
1,7	—	—	67,3	—	—	—	66,9	—	—	—	68,1
0,5	—	—	64,7	0,2	—	—	61,7	0,1	—	—	63,8
0,2	—	—	48,5	—	—	—	49,7	—	—	—	51,3
0,9	—	—	87,5	—	—	—	83,8	—	—	—	85,6
0,3	0,6	—	63,4	—	—	—	60,1	—	—	—	57,7
0,1	—	1,2	30,8	—	—	0,9	31,5	—	—	1,5	32,5
2,3	—	—	27,1	0,5	—	—	26,8	—	—	—	27,5
0,8	0,6	—	48,7	0,5	—	—	45,6	—	—	—	49,3
2,1	—	—	39,7	0,8	—	—	41,5	0,2	—	—	43,1
—	—	—	86,7	—	—	—	88,1	—	—	—	87,5
—	—	0,9	44,7	—	—	0,7	43,2	—	—	1,1	47,1

rációs rendszerbe, s elektromos membránpumpa segítségével lassú ütemben levegőt nyomattunk rajtuk keresztül. A levegő egyenletes áthaladását az egyes tenyészlombik-sorokon szorítócsavarok segítségével szabályoztuk be. Az inkubáció 10 héten át tartott, melynek során 2 hetes időközökben meg-titráltuk az elnyelető lombikokban levő bórsav oldatot, az egyes tenyész-tekéből felszabaduló ammónia kimutatása céljából. A kísérlet befejezése után az előbbieken leírt módon visszahatároztuk az el nem bontott cellulózt s ebből számítottuk ki a felhasznált cellulóz mennyiségét. A vizsgálat adatait a 2. táblázatban mutatjuk be.

Eredmények megbeszélése

Az 1. táblázat adataiból kielemezhető, hogy a kísérletbe vont gombák túlnyomó többsége abban az esetben bontja el legintenzívebben a cellulózt, amennyiben a nitrogénforrás NH_4^+ -ion alakjában van jelen. Egyet kell értenünk FOSTER-rel [5], aki több kutató vizsgálatainak felhasználásával olyan következtetéshez jutott, hogy a gombának a különböző nitrogénforráshoz való viszonyát a mikrobacejt amfotern kolloidjainak elektromos töltése határozza meg. Eszerint, amennyiben a szubsztrátumban a H^+ -ionok mennyisége magas, tehát a pH alacsony, abban az esetben az anionok hatolnak be elsősorban a sejtbe és asszimilálódnak a pozitív töltésű kolloidok által. Abban az esetben viszont, ha a pH neutrális, vagy ahhoz közel van, az amfotern kolloidok negatív töltést vesznek fel s elsősorban a kationokkal (NH_4^+) lépnek kapcsolatba. Kísérletünk folyamán a táptalaj kémhatása neutrálisra volt beállítva, ilyen esetben a fenti teória szerint a mikroszervezetek a kationok asszimilációját részesítették előnyben. Más szerzők (RIPPEL [8], BÜNNING [3]) alapvető jelentőséget tulajdonítanak a sejtmembrán válogató képességének is, amelynek elektromos töltése a szubsztrátum kémhatásának a függvénye.

A gombák nitrogénfelvevő képessége azonban kizárólag a fenti elméletekkel nem magyarázható. Ugyanis ez nem ad választ arra, hogy a kísérletben néhány törzs (*Penicillium pallidum*, *Stachybotrys atra*, és *Humicola sp*) miért nitrát jelenlétében értékesített maximális mennyiségű cellulózt. Valószínűnek látszik, hogy az egyes gombák élettani sajátosságai is befolyásolják, hogy meghatározott körülmények között melyik nitrogénforrás jelenlétében mennek végbe a fermentatív folyamatok legnagyobb intenzitással.

Nitrát nitrogén jelenlétében a vizsgált törzsek jelentős része, jóval kevesebb cellulózt képes leépíteni, mint $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ nitrogénforrás jelenlétében. Az NH_4NO_3 nitrogénforrások alkalmazásakor a cellulózhasznosítás értékei az $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ és NaNO_3 kezelések értékei között helyezkednek el.

Leglassabban a karbamid jelenlétében megy végbe a cellulóz mineralizációja. Ennek oka, véleményünk szerint többek között abban is keresendő, hogy a karbamid szénforrásként is szolgálhat a vizsgált mikroszervezetek számára, s az a széntáplálékuk egyrészét is képes biztosítani. Ezt támasztják alá azon megfigyeléseink is, amelyek szerint a karbamidos kezeléskor a mikroszervezetek növekedésének üteme semmivel sem marad el az $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -os kezeléstől, sőt a növekedés a karbamidos kezeléskor lényegesen korábban kezdődött, mint a többi variáns esetében.

Látható a 2. táblázat adataiból, hogy a nagy nitrogéndózis, azaz a szűk C : N arány több törzsnél hátrányosan befolyásolja a cellulóz elbontásának hatásfokát 20 : 1-es C : N arány adataihoz viszonyítva. A gátlás mértéke az egyes fajok és törzsek esetében lényeges differenciát mutat.

A szűk C : N arányos kezeléseknél (2,5 : 1, 5 : 1) a cellulóz elbontása során ammónia szabadul fel a tápoldatból. Az ammóniatermelés szempontjából az egyes mikroszkopikus gombák között lényeges eltérések vannak, mind a tenyészet korától, mind pedig a C : N aránytól függően. Egyes törzsek csupán 2,5 : 1, 5 : 1-es C : N arány mellett termelnek ammóniát, mások 15 : 1, sőt 20 : 1 C : N arány mellett is.

A törzsek túlnyomó része az inkubációs idő első szakaszában termel ammóniát, azaz abban az időben, mikor a növekedés és a sejtanyag szintézis legnagyobb intenzitással megy végbe. A tenyészidő második fázisában, mikor

a micélium tömeg már kialakult, s az ez időben lebontott cellulóz túlnyomó többségéből CO_2 és különböző anyagcseretermékek képződnek, az ammónia-termelés csökken vagy teljesen meg is szűnik. A tenyészidő végén, az NH_3 kiválasztás néhány törzsnél ismét emelkedő tendenciát mutat, azonban ez már véleményünk szerint másodlagos jellegű, azaz az autolízis folyamán a sejtek széteséséből származó ammóniáról van szó.

A fenti kísérletek alapján elképzelhető, hogy nagy nitrogénadagok alkalmazásakor — amennyiben a talajban kevés a nem humifikálódott szerves anyag — biológiai nitrogénkiválasztás áll fenn. Természetesen ezt talajviszonyok között igen sok tényező alapvető mértékben befolyásolhatja.

Összefoglalás

1. A különböző nitrogénforrások közül a kísérletbevont cellulózbontó mikroszkópikus gombák legtöbbje $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ N-forrás jelenlétében bontanak le maximális mennyiségű cellulózt.

2. A szűk C : N arány sok törzsnél hátrányosan befolyásolja a cellulóz elbontást.

3. A törzsek túlnyomó része szűk C : N aránynál főleg az inkubáció első szakaszában ammóniát választott ki a táptalajból.

Irodalom

- [1] BOND, J.: Fixation of nitrogen in non-legume root nodule plants. Symp. Soc. Exp. Biol. **13**. 59. 1962.
- [2] BRIAN, P. W., CURTIS, P. J. & HEMMING, H. G.: Glutinosin a fungistatic metabolic product of the mould *Metarrhizium glutinosum* S. Poppe. Proc. Roy Soc. (London) ser. B. **135**. 106. 1947.
- [3] BÜNNING, E.: Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. Flora **131**. 87. 1936.
- [4] DUGGAR, B. M. & DAVIS, A. R.: Studies in the physiology of the fungi. I. Nitrogen fixation. Am. Missouri Bot. Garden. **3**. 419. 1916.
- [5] FOSTER, J. W.: Chemical activities of fungi. Acad. Press. New York. 1949.
- [6] ITZEROTT, D.: Flora **131**. 60. 1936. cit. FOSTER, J. W.: Chemical activities of fungi. Acad. Press. New York. 1936.
- [7] KAUFMAN, D. D. & WILLIAMS, L. E.: Effect of the soil carbon : N ratio on soil fungi. Phytopathol. **53**. 956. 1963.
- [8] RIPPEL, K.: Quantitative Untersuchungen über die Abhängigkeit der Stickstoff-assimilation von der Wasserstoffkonzentration bei einigen Pilzen. Arch. Mikrobiol. **2**. 72. 1931.
- [9] ROBBINS, W. J.: The assimilation by plants of various forms of nitrogen. Amer. Bot. **24**. 243. 1937.
- [10] SINDEN, J. W., MIX, A. J. & SIN, R. G. H.: Microbiological series report No. 8., Philadelphia US Army Quartermaster General Laboratories. Feb. 12. 1948.
- [11] TOVE, S. R., NISS, H. F. & WILSON, P. W.: Nitrogen fixation by the fungus *Phoma causeria*. 49th meeting. Soc. Amer. Bact. (Abst. N° A 26) p. 59. 1949.
- [12] VERONA, O. & PICCI, G.: Sul potere asoto-fissatore di *Candida pulcherima*. Ann. Fac. Agr. Pisa. **22**. 233—234. 1961.

Érkezett: 1968. február 26.

Data on the Nitrogen Nutrition of a Few Microscopic Fungi

I. The quality of the nitrogen source and C : N ratio

J. SZEGI

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

Investigations were carried out to clarify how the different nitrogen sources as well as the deviating C : N ratio influence the cellulose decomposing capacity of the investigated microscopic fungi.

It was established, that cellulose decomposition occurred with the greatest intensity in the majority of the strains if $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ was the nitrogen source. Most strains can utilize much less cellulose when nitrate nitrogen is used in the media, than when the media contains ammonium salt. If in the treatment both nitrogen sources (NH_4NO_3) are used, the cellulose utilization values are between those obtained in the earlier treatments.

Cellulose decomposition is the slowest in the presence of carbamide. One of the reasons for this is that carbamide serves also as carbon source for the examined microorganisms, that is, it covers one part of their carbon requirement, too.

The big nitrogen dose, that is, a close C : N ratio, disadvantageously influences the cellulose decomposition in the case of many strains, compared with the values of 20 : 1 C : N ratio.

At treatments where the C : N ratio is close (2.5 : 1, 5 : 1) ammonia is liberated from the media during cellulose decomposition. There are essential deviations among certain microscopic fungi, as far as ammonia production is concerned, depending on both the age of the culture and the C : N ratio.

The majority of the strains produce ammonia in the first phase of the incubation time, when the growth and the cell material synthesis are the most intense. In the second phase of the incubation time ammonia production decreases and, in many cases, ceases. At the end of incubation, ammonia liberation shows an increasing tendency, but according to the authors this is of a secondary character, that is, the ammonia originates from the disintegration of the cells in the course of autolysis.

Table 1. The effect of different N-sources on the cellulose decomposition of microscopic fungi. (1) Naming of the strains. (2) Treatments (amount of the decomposed cellulose mg/50 ml nutrient solution).

Table 2. The effect of the C : N ratio on the cellulose decomposition and the NH_3 liberation from the media (mg).

(1) Naming of the strains. (2) Different C : N ratio treatments. (3) The order of the analysis. (4) Decomposed cellulose in %.

Fig. 1. Apparatus for studying NH_3 production 1. Culture, 2. 0.2% H_3BO_3 , 3. Cotton filter.

Datos sobre la utilización del nitrógeno por hongos celulolíticos

I. La calidad de la fuente de nitrógeno y las proporciones de C : N

J. SZEGI

Instituto de Investigación de Suelos y Agroquímica de la Academia de Ciencias de Hungría, Budapest

Resumen

El autor realizó ensayos con el fin de aclarar la influencia de las distintas fuentes de nitrógeno y también las distintas proporciones de C : N, sobre el desarrollo y la descomposición de la celulosa por los distintos hongos microscópicos estudiados.

Se determinó que la mayor parte de los cepas descomponen la celulosa, siendo la más intensiva cuando la fuente de nitrógeno es sulfato de amonía. En el caso de utilizar nitrato de potasio como fuente de nitrógeno, una considerable parte de las cepas de hongos, descomponen menos cantidad de celulosa, comparado con la variación anterior. Si el medio de cultivo contiene ambas formas de nitrógeno (NH_4NO_3), entonces los valores de descomposición se encuentran entre la primera y la segunda variación.

En el caso de utilizar carbamida, se realiza una más lenta descomposición de la celulosa. La causa de este fenómeno, según la opinión del autor, se debe a que este compuesto puede servir no sólo como fuente de nitrógeno, sino también como fuente de carbono y cubrir así una parte de ésta para los hongos.

En el caso de utilizar altas dosis de nitrógeno, es decir, si la proporción entre las fuentes de carbono y nitrógeno es estrecha, una parte de las cepas estudiadas puede descomponer menos cantidad de celulosa, en comparación de la proporción C : N, 20 : 1.

En las variaciones del ensayo, con proporciones estrechas de C : N (2,5 : 1 ; 5 : 1), del medio de cultivo se libera amonía, durante la descomposición de la celulosa. Desde el punto de vista de la producción de NH_3 , entre las distintas cepas de hongos hay una diferencia considerable, dependiendo de la edad del cultivo y del valor de la proporción de C : N, también.

La mayor parte de los hongos segrega NH_3 del substrato, sólo en la primera parte de la incubación, es decir en el tiempo en que tiene lugar el desarrollo más intensivo de los mismos. En la segunda parte de la incubación la producción de NH_3 disminuye considerablemente. Al final de la incubación, la secreción de NH_3 , en el caso de algunas cepas, manifiesta una tendencia a aumentar, por segunda vez.

Según la opinión del autor, este aumento es un fenómeno secundario, es decir se produce a consecuencia de la autólisis de las células muertas.

Tabla No 1. Influencia de las distintas fuentes de nitrógeno sobre la descomposición de la celulosa por los hongos microscópicos. (1) Denominación de las cepas de hongos. (2) Variaciones (cantidad de celulosa descompuesta en mg. por 50 ml de medio de cultivo).

Tabla 2.: Influencia de la proporción de C : N sobre la excreción de NH_3 del medio de cultivo. (1) Denominación de las cepas. (2) Variaciones de distintas proporciones de C : N. (3) El orden de los análisis. (4) Cantidad de celulosa descompuesta en %.

Figura 1. Aparato usado en la determinación de NH_3 producido por los hongos. (1) Cultivo. (2) 0.2% de H_3BO_3 . (3) Filtro de algodón.

Данные по изучению азотного питания целлюлозоразрушающих микроскопических грибов

I. Качество источника азотного питания и соотношение C : N

И. СЕГИ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт

Резюме

Автор продолжал свои исследования для выяснения вопроса как влияют различные источники азотного питания, а также различное соотношение C : N на способность микроскопических грибов разлагать целлюлозу.

Установили, что большинство использованных штаммов с наибольшей интенсивностью разлагают целлюлозу, когда источником азота служит $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. При применении питательной среды, содержащей нитратный азот, значительная часть изучаемых штаммов усваивает больше целлюлозы по сравнению с вариантом, содержащим аммонийные соли. В вариантах, где содержались оба источника азота (NH_4 , NO_3) величины усвоения целлюлозы являются промежуточными между величинами вышеназванных вариантов. Медленнее всего разложение целлюлозы проходит в присутствии карбамида. Одной из причин этого является то, что карбамид служит для изучаемых микроскопических грибов и источником углерода, т. е. обеспечивает углеродное питание.

Высокие дозы азота, т. е. узкое соотношение C : N для большинства штаммов отрицательно сказывалось на разложении целлюлозы по сравнению с величинами при соотношении C : N — 20 : 1.

В вариантах с соотношением C : N 2,5 : 1, 5 : 1, при разложении целлюлозы из питательного раствора освобождается аммиак. С точки зрения продуцирования аммиака между отдельными микроскопическими грибами имеются довольно значительные различия в зависимости от времени выращивания и от соотношения C : N.

Большинство штаммов продуцируют аммиак в первой стадии инкубационного периода, т. е. в то время, когда рост и синтез клеточного вещества проходит с наибольшей интенсивностью. Во второй фазе продуцирование аммиака снижается и во многих случаях полностью прекращается. В конце инкубации выделение NH_3 у некоторых штаммов показывает повышающуюся тенденцию, но по мнению автора это явление носит вторичный характер т. е. здесь идет речь об аммиаке, выделяющимся при разложении клеток в результате автолиза.

Табл. 1. Влияние отдельных источников азота на разложение целлюлозы микроскопическими грибами. (1) Название штаммов. (2) Варианты. (Количество разложившейся целлюлозы в мг в 50 мл питательного раствора).

Табл. 2. Влияние соотношения C : N на разложение целлюлозы и выделение NH_3 из питательной среды (в мг). (1) Название штаммов. (2) Варианты с различными соотношениями C : N. (3) Очередность проведения анализов. (4) Разложившаяся целлюлоза в %.

Рис. 1. Прибор для изучения продуцирования NH_3 . 1. Культура. 2. 0,2% H_3BO_3 . 3. Ватный фильтр.